



業績紹介：マルトーストランスポーター MalK₂ の開閉運動に関する 自由エネルギー解析

櫻井 実 (東工大・A01 公募研究代表者)

論文題目："Analysis of the Free Energy Landscapes for the Opening-Closing Dynamics of the Maltose Transporter ATPase MalK₂ Using Enhanced-Sampling Molecular Dynamics Simulation"

著者：Wei-Lin Hsu, Tadaomi Furuta, Minoru Sakurai

雑誌巻号：*J. Phys. Chem. B*, **119**, 9717-9725 (2015).

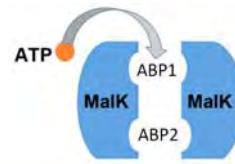
タンパク質が柔らかい分子である証拠の一つは、リガンド（基質）や他のタンパク質との結合によって、構造が変化することである。このような弱い相互作用によって生じる構造変化は、生体にとって重要な分子認識過程に必須である。ところで、このような構造変化のメカニズムとしては、"induced-fit" モデルと"conformational shift" モデルが提案されている。前者は、生化学の教科書でも解説されているもので、まずリガンドの結合が起こり、その構造にフィットするようにタンパク質の構造が後追いで変化するというものである。後者は、タンパク質はもともと多くの局所構造の間を揺らいでいるが、その中にはリガンドの構造にフィットするものもあり、リガンドはその構造（コンホーメーション）に優先的に結合し安定化させて、結果として構造変化が起きるというものである。

われわれはこれまで ABC トランスポーターに着目し、ATP 結合によって誘起される構造変化のメカニズムについて研究してきた。特に、前報 (Furukawa-Hagiya et al., *Chem. Lett.*, **616-617**, 165-170 (2014), Hayashi et al., *J. Phys. Chem. B*, **118**, 12612 (2014)) では、ATP 結合によって誘起される、2つの nucleotide binding domain (NBD) の 2 量体形成のメカニズムを溶媒である水の効果に絞って解析してきた。翻って本論文では、ATP をリガンドと見立てることにより、同 2 量体化過程を上述した 2 つの力学モデルの観点から解析した。

本研究では、マルトーストランスポーターの NBD 部位である MalK₂ を対象に 2 量体化過程の自由エネルギー地形を調べた。そのため、通常の MD シミュレーションに加え、accelerated MD (aMD) シミュレーションを実行した。後者では、コンホーメーション空間の広い範囲をカバーするため、まずバイアスプロテナシャルを付

加したシミュレーションを行い、後で reweighting によりその効果が取り除かれた自由エネルギーを得る。

右図に示すように、MalK₂ には ATP binding pocket (ABP) が 2 つある。X 線結晶解析によると、ATP が結合していない状態 (apo) では、2 つの MalK



が完全に離れた open 構造とやや接近した semi-open 構造の 2 つの構造をとる。これら 2 つの apo 状態構造とこれらの ABP 部位に ATP を結合させた構造、計 4 構造に対して aMD シミュレーションを実行し、各 ABP の開き具合 (APB distance) を反応座標にして 2 次元自由エネルギー地形を得た。

図 1 には、semi-open 構造に対する結果を示す。両図の▲の点は初期構造を示すが、いずれの APB distance も最初は約 15 Å 程度であった。等高線は赤が濃いほどエネルギーが低いことを示している。apo 状態では、いずれの ABP も大きく開く方向に揺らぎ、closed 構造に近い構造は全く見出されなかった。一方、ATP 結合状態では、両方の APB distance が約 10 Å のところに最安定構造が見出され、X 線解析による closed 構造にほぼ一致した。

以上より、apo 状態では大きく揺らぎ、様々なコンホーメーションをとっているが、リガンドである ATP が結合した状態に対応するコンホーメーションは含んでいない。一方、ATP が semi-open 構造に結合すると、ほぼ barrierless の過程を経て、close 構造に誘導される。したがって、MalK の 2 量体化過程は induced-fit モデルに従うと結論された。

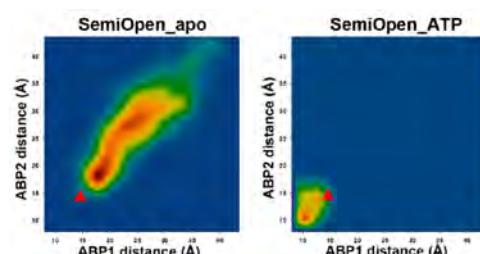


図 1 MalK₂ 量体化過程の自由エネルギー地形



業績紹介：電子和周波発生 (ESFG) 分光法の開発とその液体界面への応用

山口 祥一 (埼玉大・A02 計画研究分担者)
田原 太平 (理研・A02 計画研究代表者)

論文題目："Development of Electronic Sum Frequency Generation Spectroscopies and their Application to Liquid Interfaces (Feature Article)"

著者 : Shioichi Yamaguchi and Tahei Tahara

雑誌巻号 : *J. Phys. Chem. C* **119**, 14815-28 (2015).

理研において、2004 年から約 10 年間にわたって開発と応用展開を行った電子和周波発生 (Electronic Sum Frequency Generation, ESFG) 分光法の総説を, *Journal of Physical Chemistry C* に Feature Article として上梓した。

理研で新しく研究室を立ち上げた田原主任の誘いで、山口が任期のない定年制研究員として働き始めたのは 2002 年であった。恵まれた新しい環境の下では全く新しい挑戦的な研究を始めなければならないことを田原さんは力説され、徹底的な議論の末に田原さんの強い意見で界面の分光を始めることになった。

和周波発生 (SFG) に代表される二次非線形光学過程は、反転対称性のない界面でしか起こらず、そのおかげで SFG は界面選択性的な分光法となる、という理解は 1990 年代末には既に広く共有されており、その点は我々も議論以前から分かっているつもりであった。しかし、実際に研究を始めてみると、自らの理解の浅さを知ることになった。まず、既存の線形分光（単なる反射分光、分光エリプソメトリー、全反射減衰法など）では見ることのできない界面の性質を、二次非線形分光では本当に調べられるのか、当初は満足に答えられなかつた。また、「反転対称性のない界面」とは分子レベルでは一体どこのことなのか、よく分からなかつた。

そのような不充分な理解のまま、疑問を残しながらも、とにかく界面の研究を始めるに至った。当時 SFG による界面分子の振動スペクトル測定はすでに活発に行われていたので、それから始めるることは止め、未開拓であった電子スペクトルによる界面分子の研究を目指すことにした。界面の振動スペクトル測定では、挿帶域可視光と赤外光を界面に照射して和周波光を検出する。この赤外光を広帯域可視光に置き換えれば界面選択性的な電子スペクトルの測定がうまくできるはずだと田原さんが言いだし、実際にやってみると、この簡単なアイデアで従来の第二高調波発生 (SHG) 分光法

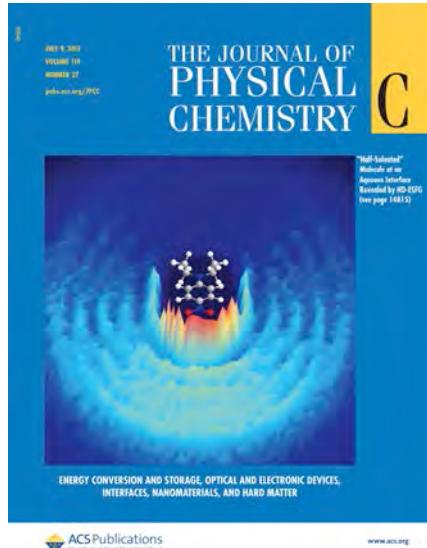


図. *J. Phys. Chem. C* のカバーアートに採用された、水／空気界面で“半分溶媒和”される溶質分子（中央）と、その周囲で水和殻を作る水分子の分布の絵。

によるものとは比較にならないほど S/N の高い界面電子スペクトルを得られるようになった。われわれはこれを ESFG 法と名付け、電子遷移ならではの応用として、界面特異的な溶媒極性¹⁾、タンパク質の表面変性²⁾、界面分子の会合平衡³⁾などを研究した。

これらの研究は、二次非線形光学感受率 ($\chi^{(2)}$) の絶対値の自乗 ($|\chi^{(2)}|^2$) のスペクトルに基づいていた。 $|\chi^{(2)}|^2$ ではなく $\chi^{(2)}$ そのものを測定する必要性は、我々も初めから認識はしていたが、方法のアイデアがなかった。着想を得たのは、2006 年暮れの分子研研究会で Y. R. Shen の講演を聴き、帰りの東名高速で博士研究員の Sobhan Sen との講演について交わした会話からだった。そのような経緯で開発に成功したヘテロダイイン検出 (HD-) ESFG は $\chi^{(2)}$ を直接測定する方法であり、 $\chi^{(2)}$ の符号から界面の分子の“上下”の配向を決定できるという優れた利点を有する。この HD-ESFG を界面特異的な溶媒構造⁴⁾ や液体界面の pH⁵⁾などの研究に適用した。こうした研究を共同研究者たちと進める中で、残されていた疑問に対する解も自然に得ることができた。

【参考文献】1) *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 6439. 2) *J. Phys. Chem. B* **2008**, 112, 13473. 3) *J. Chem. Phys.* **2006**, 125, 194711. 4) *J. Chem. Phys.* **2010**, 132, 144701. 5) *J. Chem. Phys.* **2012**, 137, 151101.



業績紹介：シングルチャンネル・ヘテロダイン検出和周波発生分光法の開発

山口 祥一（埼玉大・A02 計画研究分担者）

論文題目："Development of single-channel heterodyne-detected sum frequency generation spectroscopy and its application to the water/vapor interface"

著者：Shoichi Yamaguchi

雑誌巻号：*J. Chem. Phys.* **143**, 034202 (2015).

ピコ秒挾帯域赤外光を用いたシングルチャンネルのヘテロダイン検出和周波発生 (HD-SFG) 分光法の開発と、その水表面の振動スペクトル測定への応用を、*J. Chem. Phys.* に原著論文として報告した。

従来の和周波発生 (SFG) 分光法は、和周波光の強度をそのまま検出するホモダイン検出という方法であった。その場合、観測量は $\chi^{(2)}$ の絶対値の自乗 ($|\chi^{(2)}|^2$) である。この $|\chi^{(2)}|^2$ の振動スペクトルには、主に 3 つの深刻な問題がある。まず、 $|\chi^{(2)}|^2$ では複数の振動バンド間、または振動バンドと非共鳴バックグラウンドとの間の干渉のためにスペクトルに歪みが生じ、バルクの振動スペクトルである IR・ラマンスペクトルと直接比較できない。さらに、界面分子の“上下”の配向を示す $\chi^{(2)}$ の符号の情報が、 $|\chi^{(2)}|^2$ では失われる。また、 $|\chi^{(2)}|^2$ は分子密度の自乗に比例するため、(通常の分光法ではごく当たり前の) 検量線における信号と濃度の比例関係や系列測定における等吸収点が失われてしまう。

これらの問題を一挙に解決したのが、マルチプレックス HD-SFG¹ と位相敏感 SFG² であった。これらの方では、界面で発生した和周波光と局部発振 (LO) 光の干渉を利用して、 $\chi^{(2)}$ の実部 ($\text{Re}\chi^{(2)}$) と虚部 ($\text{Im}\chi^{(2)}$) を直接測定する。 $\text{Im}\chi^{(2)}$ は非共鳴バックグラウンドを含まず、振動バンド間の干渉もないため、同じく光学感受率の虚部である IR・ラマンスペクトルと直接比較可能である。また、 $\text{Im}\chi^{(2)}$ の符号はそのまま界面分子の上下の配向を示す。さらに、 $\chi^{(2)}$ は分子密度に比例するため、通常の分光法と全く同様に信号と濃度の比例関係や等吸収点を認めることができる。

理化学研究所の田原グループで開発されたマルチプレックス HD-SFG¹ は、フェムト秒広帯域赤外光、ポリクロメーター、CCD カメラを利用する方法である。和周波光と LO 光の干渉パターンは、周波数領域で一度にマルチチャンネル検出される。干渉測定と分光測定が共にマルチプレックスの恩恵を受けるため、非常に

効率の良い測定法である。

UC Berkeley の Y. R. Shen のグループで開発された位相敏感 SFG² は、ピコ秒挾帯域赤外光、モノクロメーター、光電子増倍管 (PMT) を利用する方法である。干渉測定は、位相変調板と呼ばれる基板を少しずつ傾けていくことによって時間領域（実空間領域）で行われる。分光測定は、挾帯域赤外光の波数を掃引することによって行われる。干渉測定と分光測定は別々にシングルチャンネル検出により行われるため、測定点数は（干渉測定の点数）×（分光測定の点数）と膨大な数になり、マルチプレックス HD-SFG に比べてはるかに効率の悪い測定法である。

本論文では、著者が 2014 年 4 月に埼玉大学大学院理工学研究科物質科学部門化学系専攻応用化学コースに着任してから開発した新しい方法、シングルチャンネル HD-SFG を報告した。これは、ピコ秒挾帯域赤外光、モノクロメーター、PMT を利用する方法であり、その点では位相敏感 SFG と同じである。違いは、今回の新方法は干渉測定を分光測定と同時に周波数領域で行うため、位相敏感 SFG よりも測定の効率が良い、ということである。測定効率の点でマルチプレックス HD-SFG には及ばないものの、新方法は 4 cm^{-1} という高い波数分解能を有しており、これはマルチプレックス HD-SFG よりも 6 倍優れている。

シングルチャンネル HD-SFG によって得られた水の表面の $\chi^{(2)}$ スペクトルは、これまで広く信じられていた 3000 cm^{-1} 付近の正のバンドを再現しなかった。これは理研のマルチプレックス HD-SFG による測定でも確認された³。問題の正のバンドは、Y. R. Shen のグループが最初に報告し、他の複数のグループが実験的にも理論的にも“再現”していた。その正のバンドの存在が否定されることになったのは衝撃的であった。SFG 分光を創始した Y. R. Shen は偉大であるが、だからと言って盲信せず虚心坦懐に実験を行うことが大切である、ということをあらためて学ぶ機会になった。

【参考文献】 1) S. Nihonyanagi, J. A. Mondal, S. Yamaguchi and T. Tahara, *Ann. Rev. Phys. Chem.* **64**, 579 (2013). 2) Y. R. Shen, *Ann. Rev. Phys. Chem.* **64**, 129 (2013). 3) S. Nihonyanagi, R. Kusaka, K. Inoue, A. Adhikari, S. Yamaguchi and T. Tahara, submitted to *J. Chem. Phys.*



業績紹介：単分子蛍光計測によるがん抑制蛋白質 p53 の DNA 探索運動の可視化

鎌形 清人（東北大多元研・A02 連携研究員）
高橋 聰（東北大多元研・A02 計画研究代表者）

論文題目："One-dimensional sliding of p53 along DNA is accelerated in the presence of Ca^{2+} or Mg^{2+} at millimolar concentrations"

著者 : Agato Murata, Yuji Ito, Risa Kashima, Saori Kanbayashi, Kei Nanatani, Chihiro Igarashi, Masaki Okumura, Kenji Inaba, Takashi Tokino, Satoshi Takahashi and Kiyoto Kamagata

雑誌巻号 : *J. Mol. Biol.* 427, 2663-2678 (2015).

p53 は、多様なストレスから細胞を守り、がんを防ぐ蛋白質である。p53 は転写因子として DNA のターゲット配列に結合し、ターゲット配列の下流の遺伝子の転写を活性化することで、細胞増殖の抑制、アポトーシス、DNA の修復などの機能を発揮する。しかし、p53 の遺伝子変異や欠損は p53 の機能を損失させ細胞をがん化させることから、p53 の機能の解明は重要な課題である。

p53 の主な機能は、60 億塩基対の膨大な長さのヒト DNA の内、わずか 20 塩基対の特定の配列を探し出し結合することである。p53 の探索機構の 1 つは、DNA から離れることなく DNA 上を動く "スライディング運動" である。本研究では、細胞内で変動する Mg^{2+} や Ca^{2+} などの 2 値のカチオンが p53 のスライディング運動に与える影響を調べることを目的とした。

まず、ヒト由来 p53 を作製する実験系を構築した。大腸菌を用いて、GST と融合させた p53 を発現させ、GST カラムを利用して p53 を精製した。この蛋白質は凝集しやすいことが知られており、活性のあるサンプルを得ることは難しいとされている。私達は、2 年の月日をかけて、凝集しにくい変異体の作製、培養や精製の条件や方法の検討、複数の DNA 結合や会合体解析を行い、4 量体で活性のあるサンプルを得る方法を確立した。特に、桑島邦博先生（東大および分子研・名誉教授）から譲り受けた蛍光分光器に自動滴定装置と自動偏光子回転装置を組み合わせることで、初めて DNA への p53 の解離定数を正確に評価できるようになった。さらに、蛍光偏光解消度を計測できるストップフロー装置を作製することで、DNA からの p53 の解離速度を計測できるようになった。

次に、自作の全反射蛍光顕微鏡を用いて、蛍光色素修飾した p53 のスライディング運動を単分子レベルで観測した（図 1 a）。2 値のカチオン濃度に依存し、p53 の DNA 上での拡散運動が促進することが明らかになった（図 1 b）。一方、p53 の DNA 上での滞在時間は、2 値のカチオン濃度が上がると、短くなった。これらの結果から、2 値のカチオンは DNA に結合し、p53 と DNA の結合を弱めることが考えられる。さらに、興味深いことに、p53 が DNA に結合してから解離するまでの移動距離（スライディング距離）は、2 値のカチオン濃度に依存せず、一定であることが分かった。以上より、細胞内で 2 値のカチオン濃度が変動しても、p53 の機能は保持されていると考えられる。

さらに、p53 の移動距離の分布の解析から、2 つのスライディングモードの存在が明らかとなった。変異体の実験から、2 つの DNA 結合ドメインの内、特定の DNA 配列に結合できるコアドメインが 2 つのモードを生み出していた。

今後、本研究により作製した p53 の機能解析の基盤を用いて、p53 の機能の更なる解明を目指している。

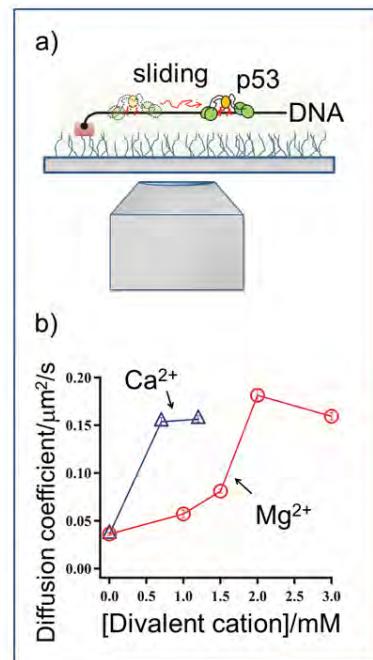


図 1. a) 単分子蛍光顕微鏡による基板に固定された DNA 上をスライディングする p53 の観察. b) DNA 上の p53 の拡散運動の 2 値のカチオン濃度依存性.



業績紹介：内包による強蛍光性ホスト-ゲスト錯体の構築と蛍光色調節

山科 雅裕（東工大資源研・大学院生）
 吉沢 道人（東工大資源研・A03 分担研究者）
 Matthew M. Sartin（理研・博士研究員）
 田原 太平（理研・A02 計画研究代表者）

論文題目："Preparation of Highly Fluorescent Host-Guest Complexes with Tunable Color upon Encapsulation"
 著者：Masahiro Yamashina, Matthew M. Sartin, Yoshihisa Sei, Munetaka Akita, Satoshi Takeuchi, Tahei Tahara, and Michito Yoshizawa*

雑誌巻号：*J. Am. Chem. Soc.*, 2015, 137, 9266–9269.

金属イオンと有機配位子の配位結合を利用した三次元構造体は、多様なナノ空間を設計できることから、分子認識化学のツールとして盛んに研究されている。しかしながら、金属イオンの重原子効果による消光のため、高い蛍光性を有するホスト-ゲスト錯体はほとんど報告されていない。我々は 2011 年以降、アントラセン環の殻を持つ配位結合性の分子カプセル **1** ($M = \text{Pd}, \text{Pt}, \text{Ni}, \text{Zn}$ など) の構築と分子内包能を報告しているが[1, 2]、蛍光性のホスト-ゲスト錯体の合成は未達成であった。今回、カプセル **1** ($M = \text{Pt}$; 図 1) と BODIPY 誘導体など蛍光性分子から形成したホスト-ゲスト錯体が強い蛍光性を示すと共に、その蛍光色をペア内包により調節することに成功したので報告する。

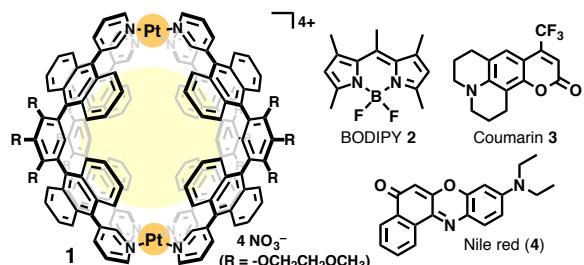


図 1. 配位結合性カプセル **1** と蛍光性分子 **2-4** の構造式

カプセル **1** と BODIPY 誘導体 **2** を 1:1 の比率で水に加え、80 °C で 1 時間攪拌すると、1 分子の **2** は疎水性効果により分子カプセルに定量的に内包された。内包体 **1**•**2** の構造は NMR、ESI-TOF MS および X 線結晶構造解析によって決定した。同様の方法で、1 分子の Coumarin 153 (**3**) と 2 分子の Nile red (**4**) が、それぞれカプセル **1** に内包されることが明らかになった。

ホスト-ゲスト錯体の水溶液の UV-vis スペクトルで

は、内包された各蛍光性分子に由来する吸収帯が 420 nm 以上に観測された（図 2a）。**1**•**2** 錯体の溶液は強い緑色蛍光 ($\Phi_F = 48\%$) を発し、その蛍光スペクトルでは 535 nm に極大値を持つ鋭い蛍光帯が得られた（図 2b）。また、カプセル内で **3** は青緑色、**4** は赤色に発光した。金属イオンに近接しているにも関わらず、カプセル内の蛍光性分子 **2-4** は、有機溶媒中と比べて約 60% の蛍光性能を維持していることが判明した。さらに、カプセルに内包された **2** の蛍光寿命 (7.4 ns) は、有機溶媒中 (5.7 ns) と同程度であった。すわち、既報のホスト-ゲスト錯体と異なり、カプセル **1** は強い重原子効果を与えず、その空間内でも蛍光性分子が強い蛍光性を示した。

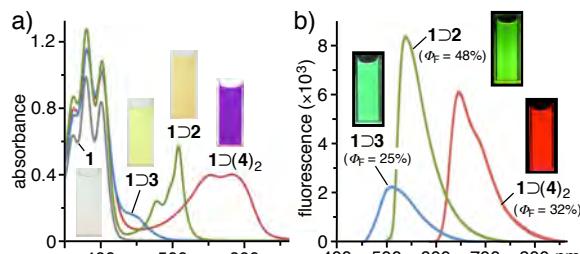


図 2. ホスト-ゲスト錯体の(a)UV-vis と(b)蛍光スペクトル

2 を内包した分子カプセルに多環芳香族分子をペア内包することで、**2** の蛍光色が顕著に変わることが分かった（図 3）。例えば、**1**•**2** 錯体の水溶液に 9-メチルアントラセン (**5a**; 1 eq.) を加えて加熱攪拌すると、ペア内包体 **1**•**2**•**5a** が得られた（收率 74%）。ペア内包前後で、蛍光色が緑からオレンジ ($\Phi_F = 36\%$) に変化した。一方、無置換体 **5b** のペア内包体は、黄色蛍光 ($\Phi_F = 42\%$) を示した。これら蛍光色変化は、有機溶媒中で 2 つのゲストを混合しても起こらないため、**1** 内でのゲスト間のエキシマー形成に由来すると考えられる。

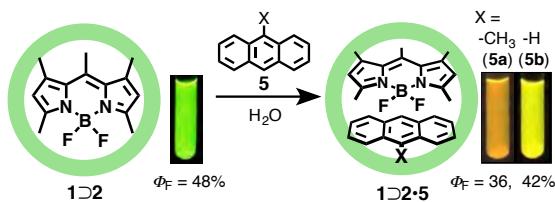


図 3. ペア内包による BODIPY 誘導体 **2** の蛍光色調節

引用文献

- [1] N. Kishi, M. Yoshizawa, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 11438–11441 (2011). [2] M. Yamashina, M. Yoshizawa, et al., *Nat. Commun.* **5**, 4662 (2014).

業績紹介：リン原子を縮環骨格に有する π 共役分子の合成と発光特性

中野 幸司（農工大院工・A03 公募研究代表者）

論文題目："Synthesis and Properties of Benzophospholo[3,2-*b*]benzofuran Derivatives"

著者：Motonobu Takahashi, Koji Nakano, and Kyoko Nozaki

雑誌巻号：*J. Org. Chem.* **80**, 3790–3797 (2015).

我々は、ヘテロ元素を縮環骨格に導入した π 共役分子の合成と機能に関して研究を進めている^[1]。本論文では、ヘテロ元素としてリンに着目し、リン原子を含有する複素環「ホスホール」を縮環させた π 共役分子の合成と発光機能について報告している。ホスホールは、含窒素芳香族化合物であるピロールの窒素原子をリン原子に置換した化合物であるが、その物性はピロールとは大きく異なる。例えば、ホスホールは芳香族性をほとんど示さず、その LUMO エネルギー準位はピロールの LUMO エネルギー準位に比べて低い。このような特徴をもつホスホールは、機能性 π 共役分子に組込むユニットとして注目され、様々な分子が報告されている。今回、これまでほとんど検討されていないホスホールとフランが縮環したホスホロ[3,2-*b*]フラン骨格を有する分子を設計した。

本研究での注目すべき成果の一つは、ホスホールが縮環した化合物の効率的な合成法の開発である。従来の一般的な合成法では、リン原子上に所望の置換基 (R) を導入するために、対応するジクロロホスフィンが必要である (図 1. route a)。しかし、市販のものは少なく、調製にも手間がかかる。一方、今回開発した手法では、所望の置換基に対応する金属反応剤を共通中间体に作用させる (図 1. route b)。この金属反応剤は、非常に多くの種類が市販されているハロゲン化物から容易に調製できるため、リン原子上の置換基が異なるホスホール誘導体のライブラリー合成に極めて有用である。

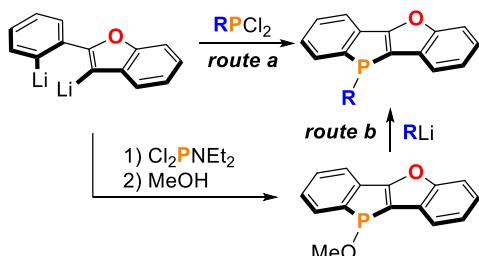
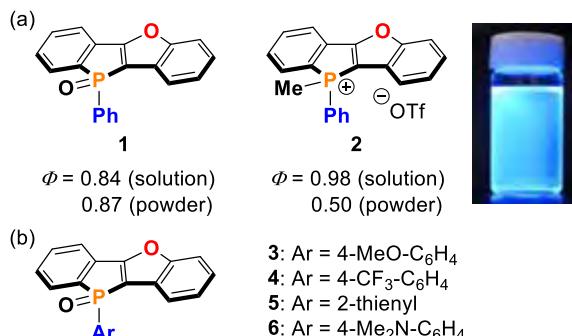


図 1. ホスホールが縮環した化合物の合成法

ある。この合成法は、最新の重要な有機合成手法を紹介する *Synfacts* 誌でも取り上げられた^[2]。

合成したホスホロ[3,2-*b*]フラン骨格を有する分子は、高い発光特性を示す。例えば、化合物 **1** および **2** の溶液中の蛍光量子収率は、それぞれ 0.84、0.98 であった (図 2a)。これらの蛍光量子収率は、化合物 **1** および **2** のフラン環がチオフェン環に置き換わった類縁体のものに比べて 0.2 程度高く、ホスホールと組み合わせる複素環が発光特性に大きく影響することが明らかとなった。また、化合物 **1** は、固体状態でも高い蛍光量子収率を示した。さらに、リン上の置換基が発光特性に大きな影響を与えることが分かった。例えば、化合物 **3**～**5** では Stokes シフトが 5700–6000 cm⁻¹ であるのに対して、強い電子供与基であるジメチルアミノ基が置換した化合物 **6** では、分子内電荷移動によって Stokes シフトが 7700 cm⁻¹ に増大した (図 2b)。前述の効率的な合成法を開発できたことが、このような置換基効果の発見に繋がった。

図 2. (a) ホスホロ[3,2-*b*]フラン骨格を有する化合物 **1** および **2** の構造と発光特性、(b) 化合物 **3**～**6** の構造

以上の結果は、ホスホールが縮環した π 共役分子の設計に重要な知見であるとともに、本新学術領域研究での課題の一つである新規ヘテロヘリセンの合成と機能にも応用できると期待される。

引用文献

[1] (a) H. Oyama, K. Nakano, T. Harada, R. Kuroda, M. Naito, K. Nobusawa, and K. Nozaki, *Org. Lett.* **15**, 2104–2107 (2013). (b) K. Nakano, H. Oyama, Y. Nishimura, S. Nakasako, and K. Nozaki, *Angew. Chem. Int. Ed.* **51**, 695–699 (2012).

[2] T. M. Swager and S. P. Luppino, *Synfacts* **11**, 0713 (2015).



業績紹介：光開閉型イオンチャネルにおける末端モジュールの機能・構造への役割

土井 聰子（岡山大・学部 4 年生）

須藤 雄気（岡山大・A03 計画研究分担者）

①論文題目："ビタミン A アルデヒドを発色団とするレチナールタンパク質の多様性と可能性"

著者：土井聰子、須藤雄気

雑誌巻号：ビタミン **89**, 83-86 (2015).

②論文題目："Structural and Functional Roles of the N- and C-terminal Extended Modules in Channelrhodopsin-1"

著者：Satoko Doi, Arisa Mori, Takashi Tsukamoto, Louisa Reissig, Kunio Ihara and *Yuki Sudo

雑誌巻号：Photochem. Photobiol. Sci. **14**, 1628-1636 (2015).

ビタミン A アルデヒドを発色団とするレチナールタンパク質は、様々な色を呈する見た目の美しさや、反応を光で制御出来る特性から、生物学のみならず、化学や物理学の世界においても注目され、盛んに研究が行われている。一方で、19世紀においては、「レチナールタンパク質の研究は、膜タンパク質や光機能性タンパク質の“モデル”としての域をでなかつた。それは、レチナールタンパク質が、「動物と好塞性古細菌のみに存在する稀な分子である」という通説によるところが大きいと考えられる。

20世紀に入り、状況を大きく変える2つの出来事が起こった。すなわち、海洋性真正細菌由来の分子に端を発する新規分子群の発見と、真核生物コナミドリムシ由来のチャネルロドプシン(ChR)の発見である。前者は、様々な生物がレチナールタンパク質を介した光反応を生命機能に利用していること、すなわち生物学的重要性を明らかにした。また、後者は、神経細胞の興奮を光で制御し、記憶や学習のメカニズムの解明に役立てる新しい分野（光遺伝学）を創出した。このような歴史的背景についての解説を、ビタミン学会誌に報告した（論文①）。

次に重要なのは、分子の精密で詳細な動作原理の解明である。2012年に東京大学の瀧木グループにより報告された ChR の結晶構造 [1]において、他のレチナールタンパク質にはない構造的特徴が見出された。すなわち、N および C 末端に存在する構造モジュールである（図左）。このモジュールの役割を明らかにするため、N および C 末端欠失変異体を

作成し、分光学的性質や機能を解析した。その結果、2つのモジュールが、ChR に特徴的な性質（発現、光サイクル反応、荷電性残基の pKa）の維持に必須であることが明らかとなった。また、興味深いことに、欠失体は、光刺激によるイオン透過活性を失う一方で、光刺激とは関係なく、恒常的イオン透過活性を示すことが明らかとなった（論文②）。

私達は、分子の基礎的理理解なくして、応用的研究は有り得ないと考えている。特に、生体高分子のような一見発散したかのような多自由度系においては、様々な角度からの精密で詳細な実験的・理論的解析の積み重ねが重要となる。それにより、はじめて機能性分子の変換・創成が可能になる。実際に私達は色制御に関する研究を礎に、ChR を含むレチナールタンパク質の青色光吸収型分子の合理的創成に成功している（図右）[2, 3]。最後に、本新学術領域研究の知的・人的交流により本研究がなされたことを記しておきたい。「人は石垣、人は城、人は堀、情けは味方、仇は敵なり」。どうやらこちらの通説（格言）は正しいようである。

電気信号を生み出すイオンチャネル

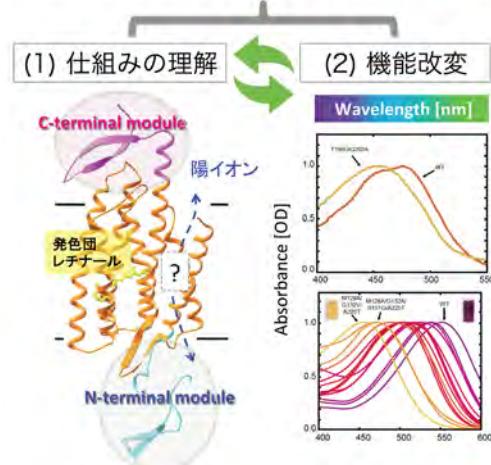


図 チャネルロドプシンの仕組みの理解を礎に、機能改変（創成）の実現を目指す。

引用文献

- [1] H.E. Kato, et al., *Nature* **482**, 369-374 (2012).
- [2] Y. Sudo, et al., *J. Biol. Chem.* **288**, 20624 (2013).
- [3] H.E. Kato, et al., *Nat. Commun.* **6**, 7177 (2015).



The TSRC Workshop on Protein Dynamics 2015 報告

水谷 泰久 (阪大院理・A03 計画研究代表者)

Telluride Science Research Center (TSRC) Workshop on Protein Dynamics 2015 が、2015 年 8 月 3 日（月）～7 日（金）に、アメリカコロラド州テルライドで開催された。テルライドでは、TSRC の主催によって、毎年 6 月中旬から 8 月中旬までの約 2 カ月間、毎週 3 から 5 件のテーマでワークショップが開催されており、本ワークショップはそのひとつである。タンパク質ダイナミクスに関する実験研究者、理論研究者によるディスカッションを中心とした研究集会で、隔年で開催されている。今回は、Frans Mulder 氏 (Aarhus University)、Ann McDermott 氏 (Columbia University)、Timothy Sage 氏 (Northeastern University)、倭剛久氏 (名大) の 4 名がオーガナイザーを務めた。講演者は 29 人で、日本からは、水谷のほか、北尾彰朗氏 (東大、A01 班班長)、笠口友隆氏 (慶應大、A01 公募班員)、倭剛久氏が参加した。また、本領域の国際評価委員である Paul Champion 氏 (Northeastern University)、John Straub 氏 (Boston University) の参加もあった。各人 45 分 (発表 35 分 + ディスカッション 10 分) が持ち時間であったが、議論が白熱した講演では、これを超えるものも多かった。ワークショップの雰囲気はきわめてインフォーマルで、10 分のディスカッションの時間はもちろんのこと、35 分の発表のなかでも適宜質問をするというスタイルであった。そのため、さまざまな手法の研究者が集まっていたにもかかわらず、その壁を感じることはほとんどなかった。主な実験手法は NMR、ESR、振動分光法、蛍光分光法、X 線回折法、テラヘルツ分光法であり、これに加えて MD シミュレーションをはじめとする理論研究も多くあった。また、実験研究の発表でも理論化学・計算化学研究との共同研究の結果を併せて発表している点も印象的で、本領域の特徴のひとつである「理論と実験の協奏」がタンパク質ダイナミクスの研究分野でも重要な潮流となっていることを実感した。

今回は、パラレルに開催されているワークショップ “The Role of Dynamics in Enzyme Catalyzed Reactions”との間でジョイントセッションが開かれた。二つのワークショップの間では共通した問題も多く、

有意義な試みであった。

6 月中旬から 8 月中旬までのワークショップ開催期間中は、毎週火曜日夕方に、TSRC Town Talk という市民講座が開かれている。今年は、始まって 24 年目とのことである。参加費は無料で、ワークショップの参加者以外にも、多くの地元の住民が参加し、ほぼ満席であった。われわれが参加した週には、“Personalized Medicine for Coral Reefs and People”というタイトルで、Forest Rohwer 氏 (San Diego State University) が、サンゴ礁の生態学について講演を行った。興味を引くよう工夫された大変わかりやすい講演で、一般市民から多くの質問が出ていた。

テルライドは、ロッキー山脈のふもと、標高約 2600 メートルにある、小さく静かな町である。まわりは 1000 メートル強の山に囲まれていて、半日のハイキングで富士山山頂以上のハイキングを楽しむことができる。冬はスキーなどウィンタースポーツに、夏は避暑に人が訪れる。普段の環境から離れ、研究について深く議論し考えるには絶好の環境であった。

次回のワークショップは、2017 年の夏に開催される予定である。TSRC Workshop に関する詳細は、URL (<http://www.telluridescience.org/>) を参照されたい。





F π -12 参加及び Christine Luscombe 研究室訪問報告

高瀬 昂（農工大院工・A03 中野グループ・研究協力者 M2）

2015 年 7 月 19 日から 24 日まで、アメリカ・ワシントン州シアトルにある University of Washington で開催された 12th International Symposium on Functional π -Electron Systems (F π -12) に参加しました。今回の学会参加にあたり、本新学術領域研究より若手研究者の研究促進のための海外派遣支援制度を通して、多大なご支援を賜りました。関係者の方々にこの場をお借りして深く御礼申し上げます。

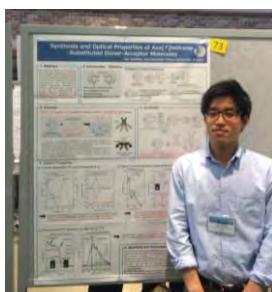
F π -12 は有機薄膜トランジスタ、有機太陽電池、有機発光材料、バイオエレクトロニクス、バイオセンサーへの応用を目指した、新しい π 共役分子およびポリマーの設計と合成を研究している世界各国の研究者が一堂に会し、新たな成果を議論する国際会議です。1989 年（大阪）から始まり、12 回目となる今年はシアトルで開催され、370 名を超える研究者が 6 日間にわたり活発な議論を交わしました。今回私は、「Synthesis and Optical Properties of Aza[7]-helicene-substituted Donor-Acceptor Molecules」という題目で 3 日目と 5 日目にポスター発表をおこないました。ヘリセンとは、複数の芳香環が互いにオルト縮環した化合物であり、両末端の芳香環間の立体反発によって安定ならせん構造を形成するキラルな π 共役分子です。キラル化合物は円二色性、円偏光発光などキラリティに付随した光学特性（キロプレティカル特性）を示しますが、ヘリセンのキロプレティカル特性は、通常の低分子キラル化合物に比べて特異的に大きいことが分かっています。所属研究室ではこれまでに、窒素、酸素、ケイ素、リンなど様々なヘテロ元素を導入したヘテロヘリセンの合成を報告してきました。今回は、ヘリセンの発光特性の向上を目指して、ヘテロ元素として窒素を導入したアザ[7]ヘリセンを基盤とするドナー・アクセプター構造を持つ新規ヘリセン誘導体の設計と合成、特異な光学特性について報告しました。

私にとって、海外の国際学会での発表は初めてであり、さらに、単独で海外に渡航する事も初めての経験でした。発表当初は、緊張のあまり事前に準備してきたフレーズも出てこなくなり、質問は理解できても言

いたい内容が英語で表現できず、とても苦労しました。しかし、数人の方とのディスカッションを進めていくうちに、何とかこちらの意図していることが伝わっていそうだと分かり、次第にスムーズにディスカッションできるようになりました。今回、様々な発表者の発表を聴き、英語でディスカッションする機会にも恵まれ、自らの研究に対するモチベーションも高める事ができ、非常に良い経験であったと実感しています。

また、学会期間中に、オーガナイザーである Christine Luscombe 先生の研究室を訪問しました。Luscombe 研は、 π 共役分子の精密重合や π 共役高分子の有機エレクトロニクスへの応用を始め、多岐にわたる研究に非常に精力的に取り組んでいる研究室です。訪問の間には、研究室の学生ともディスカッションをおこない、親睦を深めることができたとともに、大きな刺激も受けました。

今回の国際学会参加と研究室訪問では、多くの研究者の方との交流を始め、英語でのディスカッションや貴重な意見やアドバイスを頂くことができました。これらは国内学会では経験することのできないような貴重な経験であり、今回の海外渡航は、研究者としてだけではなく人間としてこれから成長していくためにも大いに役立つ価値あるものとなりました。このようなすばらしい機会を与えてくださった本新学術領域研究関係者の皆様、所属研究室の中野幸司先生、訪問を受け入れていただいた Christine Luscombe 先生に改めて深く御礼申し上げます。



ポスターセッション時の筆者とキャンパスの風景